

УДК 576.895.121.2

© 1995

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕЗИСА ПОКРОВОВ ПРОЦЕРКОИДОВ КАРИОФИЛЛИДНЫХ ЦЕСТОД

Л. Г. Поддубная

Показано, что формирование покровов кариофиллидных цестод сопровождается перестройкой поверхностного слоя и сменой его ультраструктуры на стадии процеркоида. Покровы церкома в ходе онтогенетического развития также обнаруживают ряд изменений.

Представители цестод отряда Caryophyllidea (гвоздичники) характеризуются жизненным циклом с одной личиночной стадией — процеркоида, развивающегося в полости тела малощетинковых червей. Неотеническая форма *Archigetes* на той же личиночной стадии достигает в олигохетах половозрелого состояния. Для достижения личинками инвазионной стадии необходимо от 2 до 4 месяцев (Кулаковская, 1962; Calentine, 1964, 1984; Scholz, 1991). Будучи инвазионными, процеркоиды могут оставаться в олигохетах до двух лет. Такой длительный период пребывания личинок в полости тела малощетинковых червей предполагает наличие у них совершенных защитных механизмов от воздействия организма хозяев.

Имеющаяся информация по функциональной морфологии кариофиллид затрагивает строение покровов, железистых аппаратов взрослых форм гвоздичников (Bequin, 1966; Nayunga, Mackiewicz, 1975; Давыдов, Куперман, 1979; Richards, Arme, 1981, 1982; Поддубная и др., 1984, 1986).

Отсутствуют данные по становлению покровов кариофиллидных цестод в онтогенезе. Исследования по формированию покровов цестод на разных стадиях онтогенеза проводились на псевдофиллидных, протеоцефаллидных, циклофиллидных цестодах (Bråten, 1968; Slais, 1973; Lumsden e. a., 1974; Краснощеков, 1982; Threadgold, 1984; Куперман, 1988, и др.).

Цель настоящей работы — изучение ультраструктурной организации тегумента (покровов) процеркоидов кариофиллидных цестод и дифференциации его в процессе формирования личинок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили кариофиллиды на фазе процеркоида из полости тела естественно зараженных олигохет (табл. 1).

При определении сроков развития процеркоидов мы руководствовались литературными данными, связанными с изучением развития гвоздичников в промежуточном хозяине (Кулаковская, 1962; Calentine, 1964, 1984; Kennedy, 1965; Демшин, 1984; Scholz, 1991). Продолжительность жизни процеркоидов, сроки их развития до инвазионного состояния различны для разных видов кариофиллид и, по-видимому, обусловлены факторами специфичности и тем-

Таблица 1
Видовой состав исследованных процеркоидов
и их хозяев

Table 1. Species set of examined procercooids
and their host

Вид паразита	Хозяин	Водоем
<i>Archigetes sieboldi</i>	<i>Limnodrilus udekemianus</i>	Р. Латка (Ярославская обл.)
<i>Caryophyllaeus laticeps</i>	<i>Tubifex tubifex</i>	Рыбинское водохранилище, Волга
<i>Khawia armeniaca</i>	<i>Potamothenix hammoniensis</i>	Оз. Севан
<i>Khawia sinensis</i>	<i>T. tubifex</i>	Прудовое хозяйство (Беларусь)

пературными параметрами. При 18—22° для достижения инвазионности личинкам необходимо от 40—70 дней до 3—4 месяцев.

В период развития в целоме олигохет процеркоиды проходят ряд этапов (стадий) органогенеза. Кеннеди (Kennedy, 1965) к первой стадии относит личинок, у которых отсутствует церкомер (процеркоиды 17—22 дней развития); ко второй — процеркоидов с полностью развитым церкомером (от 17 до 37 дней развития); к третьей — личинок со сформированным сколексом и полностью развитыми половыми органами (от 37 дней развития до наступления инвазионности).

Наше изучение четырех видов кариофиллидных процеркоидов проводилось поэтапно согласно вышеперечисленным стадиям органогенеза личинок.

Для электронно-микроскопического исследования объекты фиксировали в 2.5%-ном глютаральдегиде и 1%-ном OsO₄ на фосфатном буфере (pH 7.2), дегидратировали и заключали в аралдит. Срезы контрастировали 4%-ным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца, по Рейнольдсу, и просматривали на электронном микроскопе JEM-100C.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Покровы тела (тегумент) процеркоида состоят из наружного синцитиального цитоплазматического слоя, ограниченного наружной и базальной мембранами, и нижележащих цитонов тегумента. На ранних стадиях развития процеркоидов на их поверхности образуются короткие, равномерно расположенные цитоплазматические выросты — микроворсинки длиной 0.18 ± 0.01 мкм и диаметром 0.11 ± 0.004 мкм (рис. 1, А). Слой наружной цитоплазмы толщиной 0.63 ± 0.03 мкм содержит многочисленные электронноплотные гранулы округлой, реже неправильной формы размером $0.15 \pm 0.009 \times 0.11 \pm 0.007$ мкм. В проксимальной части этого слоя сосредоточено большое количество митохондрий, встречаются отдельные липидные тела диаметром 1.9 ± 0.12 мкм. Цитоплазматический матрикс светлый, в нем просматриваются фибриллярные структуры и рибосомы. На всем протяжении тела процеркоидов наблюдаются небольшие выпячивания апикальных участков наружного цитоплазматического слоя, лишенные органоидов (рис. 1, А, Б).

Цитоны тегумента ранних стадий развития имеют «разреженную» карио- и цитоплазму (рис. 1, Б). Их ядра яйцевидной формы размером $8.35 \pm 1.08 \times 5.54 \pm 0.73$ мкм. В цитоплазме клеток обнаружены секреторные гранулы,

Таблица 2

Длина микроворсинок передних и задних отделов тела
кариофиллидных процеркоидов

Table 2. The length of microhairs in anterior and
posterior parts of caryophylloid procercoids

Вид паразита	Длина микроворсинок (мкм)	
	передние отделы тела	задние отделы тела
<i>C. laticeps</i>	0.22 ± 0.02	0.57 ± 0.03
<i>K. armeniaca</i>	0.56 ± 0.03	0.82 ± 0.01
<i>K. sinensis</i>	0.45 ± 0.02	0.81 ± 0.004
<i>A. sieboldi</i>	0.26 ± 0.01	0.76 ± 0.03

расположенные комплексами по несколько десятков гранул в каждом, липидные включения, митохондрии, значительное количество аутофагосом (рис. 1, В). Помимо цитонов, в покровах имеются единичные малодифференцированные клетки с крупным ядром и окаймляющим его узким участком цитоплазмы. Цитоплазма клеток плотная, содержит митохондрии и многочисленные свободные рибосомы (рис. 1, Б). Под базальной мембраной синцитиального слоя выявляются участки саркоплазмы, содержащие неупорядоченные мышечные волокна, рибосомы, митохондрии (рис. 1, А). Прилегающие к ним миобласты крупные, с плотной кариоплазмой.

Последующие этапы развития процеркоидов (вторая стадия органогенеза, по Кеннеди, — личинки от 17 до 37 дней развития) характеризуются преобладанием в покровах малодифференцированных клеток (рис. 1, Г). Размеры клеток составляют $4.54 \pm 0.75 \times 1.61 \pm 0.02$ мкм. При этом отмечается идентичность содержимого цитоплазмы этих клеток и слоя дистальной цитоплазмы. Этот слой электронноплотный за счет заполняющих его многочисленных свободных рибосом и митохондрий (рис. 1, Д). Наблюдается увеличение размеров микроворсинок. Согласно морфометрическим данным, отмечается четкая дифференциация размеров микроворсинок в передних и задних отделах тела процеркоидов (табл. 2). На поперечном срезе микроворсинок обнаружен внутренний цилиндр, отделенный от плазматической мембраны светлым промежуток (рис. 1, Е).

На данном этапе развития личинок формируется церкомер. При этом покровы хвостового придатка, так же как и личиночного тела, представлены плотной дистальной цитоплазмой, покрытой микроворсинками, и малодифференцированными клетками (рис. 1, Ж).

Дальнейшие процессы морфогенеза покровов сопровождаются рядом морфологических изменений всех составляющих их структур. Наблюдается удлинение апикальных концов микроворсинок в так называемые бичевидные отростки (рис. 2, А). Толщина наружной цитоплазмы на всем протяжении тела одинакова и составляет в среднем у *K. armeniaca* 0.48 ± 0.04 мкм. Отмечается насыщение цитоплазматического слоя электронноплотными тельцами и везикулами, не зарегистрированными на предыдущих этапах развития (рис. 2, Б, В). Размеры электронноплотных телец составляют от 0.25 до 0.5 мкм (рис. 2, Б). Ультратонкое строение таких телец изучено на примере *C. laticeps* (Richards, Arme, 1982). По изображению телец на срезах авторы подразделяют их на N, B, T-типы. Архитектоника всех телец одинакова. Тельца ограничены мембраной, имеют яйцевидную форму с правильной внутренней структурой. В продольном сечении тельца полосчатые с шириной полосок 2.5 нм, в поперечном — состоят из отдельных шестиугольных субъединиц с центральным электронноплотным стержнем.

Везикулы концентрируются в апикальных отделах покровного эпителия (рис. 2, В). Можно наблюдать появление везикул под плазматической мембраной и слияние мембран везикул с плазматической мембраной. Такая отчетливая картина везикулярной секреции выявлена у процеркоидов *C. laticeps* и *A. sieboldi*. На данном этапе развития кариофиллидных личинок на поверхностной мембране обнаружен слой в виде фибриллярного и гранулярного материала. У *A. sieboldi* его высота соразмерна с длиной бичевидных отростков, отходящих от апикальных отделов микроворсинок (рис. 2, В, Г).

Электронноплотные тельца и везикулы поступают в наружную цитоплазму по многочисленным цитоплазматическим отросткам дифференцированных тегументальных клеток, где они синтезируются. Цитоплазма таких клеток содержит рибосомы, митохондрии, мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума, диктиосомы комплекса Гольджи, липиды. В покровах, наряду с дифференцированными клетками, имеются клетки на разных стадиях дифференцировки, малодифференцированные, а также миобласты (рис. 2, Д).

В передней части тела личинок обнаружены железистые клетки со скоплением в их цитоплазме округлых электронноплотных гранул секрета размером 0.45×0.28 мкм у *K. armeniaca* и *C. laticeps*. У *A. sieboldi* гранулы несколько мельче — 0.35×0.26 мкм. Стенки протоков таких клеток укреплены микротрубочками и отделены от покровов специализированными контактами (рис. 2, Е).

Выявляются дифференцированные тегументальные цитоны и в покровах церкомера. Между ними локализованы паренхимные отростки, депонирующие гликоген. Основное сосредоточение последних наблюдается в центре хвостового придатка.

Следующий этап дифференцировки покровов связан с формированием микротрихий. При этом под плазматической мембраной микроворсинок вдоль стенок их внутреннего цилиндра появляется скопление электронноплотного материала в виде электронноплотных телец (рис. 3, А, Б). Наиболее интенсивное их сосредоточение зарегистрировано в апикальных отделах микроворсинок. Вероятно, за счет поступления электронноплотного материала по периферии внутреннего цилиндра, происходит рост апикальной части микротрихий. Превращение микроворсинок в микротрихии протекает неодновременно. Формирующиеся микротрихии наряду с микроворсинками встречаются на всей поверхности тела процеркоидов. Имеется соответствие между длиной и диаметром микроворсинок и базальными участками формирующихся микротрихий. Различная длина микроворсинок в передних и задних отделах тела процеркоидов является основой для формирования двух типов микротрихий: конусовидных и трубчатых. Конусовидные микротрихии расположены в переднем отделе тела червей, имеют короткую широкую базальную часть и удлиненную, суживающуюся к вершине апикальную (рис. 3, В). В средних и задних отделах тела обнаружены микротрихии трубчатого типа, с более длинной узкой базальной частью и короткой апикальной (рис. 3, Г). Базальная и апикальная части микротрихий отделены друг от друга многослойной пластинкой. Микротрихии двух типов покрывают тело инвазионных процеркоидов. Отмечается равномерное уплотнение стенок внутреннего цилиндра базальной части сформированных микротрихий, наиболее ярко выраженное у конусовидных структур (рис. 3, В).

Покровы церкомера инвазионных процеркоидов и взрослых *A. sieboldi* носят отчетливо секреторный характер. При этом в дистальной цитоплазме, помимо рибосом и митохондрий, содержатся многочисленные секреторные гранулы, везикулы, поступающие по цитоплазматическим отросткам из тегументальных цитонов (рис. 3, Д). Клетки тегумента с ядром округлой или овальной формы. Цитоплазма их содержит многочисленные органоиды: цистерны гранулярной эндоплазматической сети, диктиосомы комплекса Гольджи, секреторные гранулы, митохондрии, везикулы, рибосомы (рис. 3, Е).

ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение покровных тканей процеркоидов кариофиллидных цестод показало, что в ходе развития личинок в полости тела олигохет тегумент претерпевает ряд морфологических изменений. Так, дистальная цитоплазма покровов ранних стадий развития содержит многочисленные секреторные гранулы, продуцируемые крупными цитонами с «разреженной» карио- и цитоплазмой. Секреторные гранулы выделяются на поверхность личинок мерокриновым способом. Последующие этапы развития личинок характеризуются образованием плотного дистального слоя с микроворсинками и доминированием в покровах малодифференцированных клеток и их дальнейшей дифференцировкой. Дифференцированные тегументальные клетки секретируют везикулы и электронноплотные тельца. Экзоцитоз содержимого везикул, вероятно, является основой для появления тонкофибриллярного слоя, сходного с гликокаликсом, на поверхности тела личинок. Наиболее развит такой слой у процеркоидов, достигших передних сегментов олигохет и локализующихся в их семенных везикулах.

Секрет, выделяемый на поверхность тела процеркоидов на ранних стадиях развития, и тонкофибриллярный слой, появляющийся у личинок более поздних стадий развития, обладают, по нашему мнению, защитными свойствами.

В процессе своего развития процеркоиды мигрируют из задних отделов тела олигохет в их передние сегменты. Подобная миграция связана с преодолением тканевых барьеров в виде многочисленных диссепиментов, разделяющих целом олигохет. Железистые клетки, выявленные в переднем отделе тела личинок, вероятно, выполняют в данном случае функцию желез проникновения.

Покровы церкомера в ходе онтогенетического развития также обнаруживают ряд изменений. Если на начальных этапах преобладающей их функцией, вероятно, является трофическая, то на более поздних стадиях развития отчетливо секреторный характер покровов предполагает выполнение ими наряду с трофической и защитной функции. Сосредоточение в хвостовом придатке значительного количества отростков, депонирующих гликоген, по-видимому, связано с длительным пребыванием процеркоидов в целоме малощетинковых червей.

Основные закономерности генезиса покровов кариофиллидных цестод сходны с таковыми у псевдофиллидных и протеоцефаллидных лентецов (Куперман, 1988). Как и у других групп низших цестод, окончательное становление покровов гвоздичников характеризуется 2 этапами: появлением на поверхности тела микроворсинок, а позднее — заменой микроворсинок микротрихиями. В онтогенезе кариофиллидных цестод микротрихии с одновременной их дифференциацией на конусовидные и трубчатые возникают как производные микроворсинок. Данный процесс протекает у различных цестод в разное время, что определяется сроками, необходимыми для окончательного формирования процеркоидов. Так, у псевдофиллидных процеркоидов *Triaenophorus nodulosus* формирование покровов завершается на 9 сутки после заражения их промежуточных хозяев — веслоногих рачков, и отмечается способность личинки к инвазированию следующего хозяина (Куперман, 1988). Морфогенез покровов кариофиллидных личинок реализуется в течение длительного времени (от 40—70 дней до 3—4 месяцев). Если у псевдофиллидных цестод преобразования поверхностного слоя тела процеркоида не затрагивают обычно церкомер и прослеживаются процессы деструкции этой части личинки, то структура покровов церкомера кариофиллид не просто модифицируется, но и специализируется в ходе онтогенеза.

Выявленные отличия в развитии кариофиллидных личинок обусловлены, на наш взгляд, эволюционной тенденцией гвоздичников к прогенетическому развитию.

Список литературы

- Давыдов В. Г., Куперман Б. И. Структура фронтальных желез у представителей трех отрядов цестод // Физиология и паразитология пресноводных животных. JL, 1979. С. 177—188.
- Демшин Н. И. О биологии *Caryophyllaeus fimbriiceps* и *Khawia parva* (Caryophyllidae, Cestoda) — паразитов карповых рыб // Паразиты животных и растений. Владивосток, 1984. С. 63—70.
- Кулаковская О. П. Развитие гвоздичников (Caryophyllidae: Cestoda) в промежуточном хозяине // Зоол. журн. 1962. Т. 41, вып. 7. С. 986—992.
- Краснощекоев Г. П. Лявогенез и морфологическая изменчивость тегумента личинок высших цестод: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. 1982. 43 с.
- Куперман Б. И. Функциональная морфология низших цестод. Л.: Наука, 1988. 167 с.
- Поддубная Л. Г., Давыдов В. Г., Куперман Б. И. Морфофункциональное изучение *Archigetes sieboldi* (Cestoda: Caryophyllidae) в связи с особенностями его жизненного цикла // ДАН СССР. 1984. Т. 276, № 4. С. 1010—1013.
- Поддубная Л. Г., Давыдов В. Г., Куперман Б. И. Морфофункциональное изучение некоторых представителей цестод отряда Caryophyllidae (Cestoda). Биология и экология водных организмов // Тр. ИБВВ АН СССР. 1986. Вып. 53 (56). С. 208—217.
- Beguín F. Etude au microscope électronique de la cuticule et de ses structures associées chez quelques cestodes. Essai d'histologie comparée // Zeitschr. Zellforsch. 1966. Bd 72. S. 30—46.
- Bråten F. The fine structure of the tegument of *Diphyllobothrium latum*. A comparison of the plerocercoid and adult stages // Zeitschr. Parasitenk. 1968. Bd 30. S. 95—103.
- Calentine R. The life cycle of *Archigetes iowensis* (Cestoda: Caryophyllidae) // J. Parasitol. 1964. Vol. 50. P. 454—458.
- Calentine R. Biology of *Archigetes* (Caryophyllidae) in *Limnodrilus hoffmeisteri* (Tubificidae) // Proc. Helminthol. Soc. Wash. 1984. Vol. 51, N 3. P. 109—112.
- Hayunga E. G., Mackiewicz J. S. An electron microscope study of the tegument of *Hunterella nodulosa* (Cestodea: Caryophyllidae) // Int. J. Parasitology. 1975. Vol. 5, N 3. P. 309—319.
- Kennedy C. R. Taxonomic studies on *Archigetes Leuckart*, 1978 (Cestoda: Caryophyllidae) // Parasitology. 1965. Vol. 55. P. 439—451.
- Lumsden R. D., Oaks J., Müller J. Brush border development in the tegument of the tapeworm *Spirometra mansonioides* // J. Parasitol. 1974. Vol. 60, N 2. P. 209—226.
- Richards K. S., Arme C. Observations on the microtriches and emergence in *Caryophyllaeus laticeps* (Caryophyllidae: Cestoda) // Int. J. Parasitol. 1981. Vol. 11. P. 369—375.
- Richards K. S., Arme C. The microarchitecture of the structured bodies in the tegument of *Caryophyllaeus laticeps* (Caryophyllidae: Cestoda) // J. Parasitol. 1982. Vol. 68, N 3. P. 425—432.
- Scholz T. Early development of *Khawia sinensis* Hsu, 1935 (Cestoda: Caryophyllidae), a carp parasite // Folia Parasitologica. 1991. Vol. 38. P. 133—142.
- Slais J. Functional morphology of cestode larvae // Adv. Parasitol. 1973. Vol. 11. P. 395—480.
- Threadgold L. T. Parasitic plathyhelminths // Biol. Integument. 1984. Vol. 1. Berlin c. a. P. 132—191.

Институт биологии внутренних вод РАН,
Ярославская обл., пос. Борок

Поступила 7.02.1994

PECULIARITIES OF THE INTEGUMENT GENESIS IN PROCERCIDS OF CARYOPHYLLIDEAN CESTODES

L. G. Poddubnaya

Key words: Caryophyllidae, procercoid, tegument, cercomer.

SUMMARY

The ultrastructure of the tegument in procercoids of caryophyllid cestodes and its differentiation in the development of larvae were investigated. It is shown, that main objective ways of the integument genesis in caryophyllid cestodes are similar to ones in pseudophyllidean and proteocephallid cestodes. The differences of the development of caryophyllid larvae are recovered. In caryophyllid larvae the microtrichiae derive from microhairs and simultaneously differentiate into cone-like and tubular forms. During the development in the body cave of oligochaeta the structure of the cercomer integument undergoes somewhat morphological reconstructions to execute probably some trophical and protective function.

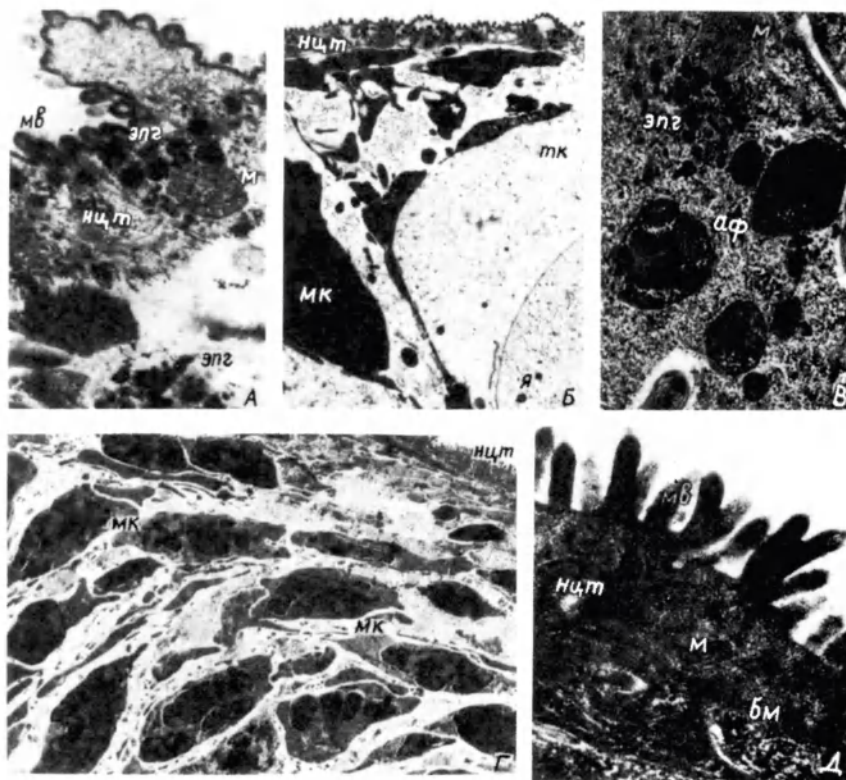


Рис. 1. Тонкое строение покровов процеркоидов некоторых кариофиллидных цестод.
 А — наружная цитоплазма тегумента процеркоида *K. armeniaca* на ранних стадиях развития, $\times 26\,000$; Б — тегумент процеркоидов *K. armeniaca* (та же стадия), $\times 5\,000$; В — цитоплазма цитонов тегумента *K. armeniaca*, $\times 20\,000$; Г — малодифференцированные клетки покровов *K. sinensis* второй стадии органогенеза, $\times 2\,600$; Д — микроворсинки тегумента *K. sinensis*, $\times 33\,000$;

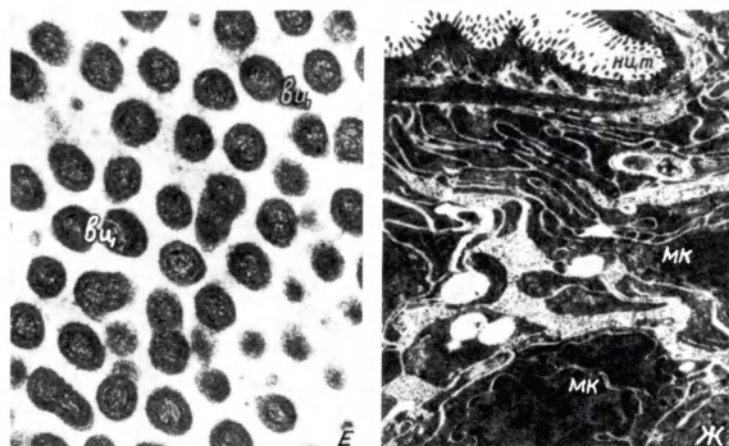


Рис. 1 (продолжение).

Е — поперечный срез микроворсинок *K. sinensis*, $\times 50\,000$; Ж — покровы церкомера *A. sieboldi*, $\times 5\,000$. аф — аутофагосомы, бм — базальная мембрана, вц — внутренний цилиндр, м — митохондрии, мв — микроворсинки, мк — малодифференцированные клетки, нцт — наружная цитоплазма тегумента, тк — тегументальные клетки, элг — электронноплотные гранулы, я — ядро.

Fig. 1. The ultrastructure of the tegument of some proceroids of *Caryophyllidea*.

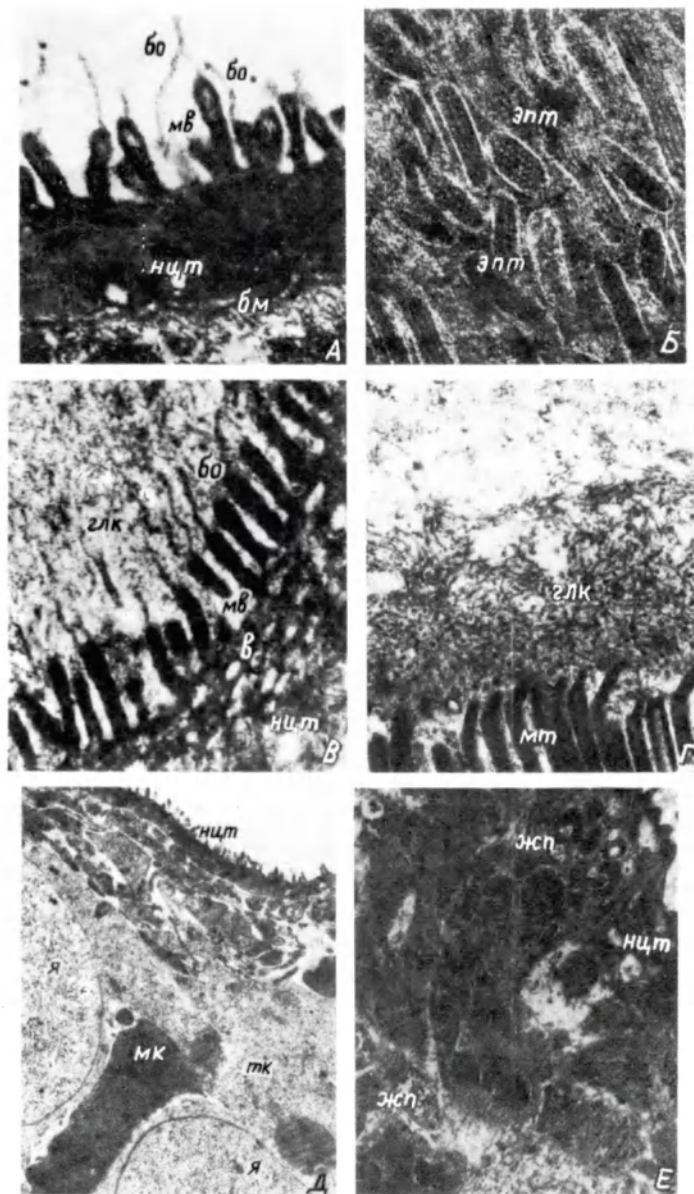


Рис. 2. Тонкое строение покровов процеркоидов некоторых кариофиллидных цестод.
 А — удлинение апикальных концов микроворсинок *K. armeniaca*, $\times 33\,000$; Б — электронноплотные тельца *K. sinensis*, $\times 66\,000$; В, Г — гликокаликс на поверхности процеркоида *A. sieboldi*, $\times 26\,000$; Д — дифференцированные тегументальные клетки *K. armeniaca*, $\times 5000$; Е — проток желез проникновения *C. laticeps*, $\times 13\,000$. бо — бичевидный отросток, в — везикулы, глк — гликокаликс, жп — железы проникновения, мт — микротрихии, эпт — электронноплотные тельца; остальные обозначения, как на рис. 1.

Fig. 2. The ultrastructure of the tegument of some procercoids of *Caryophyllidea*.

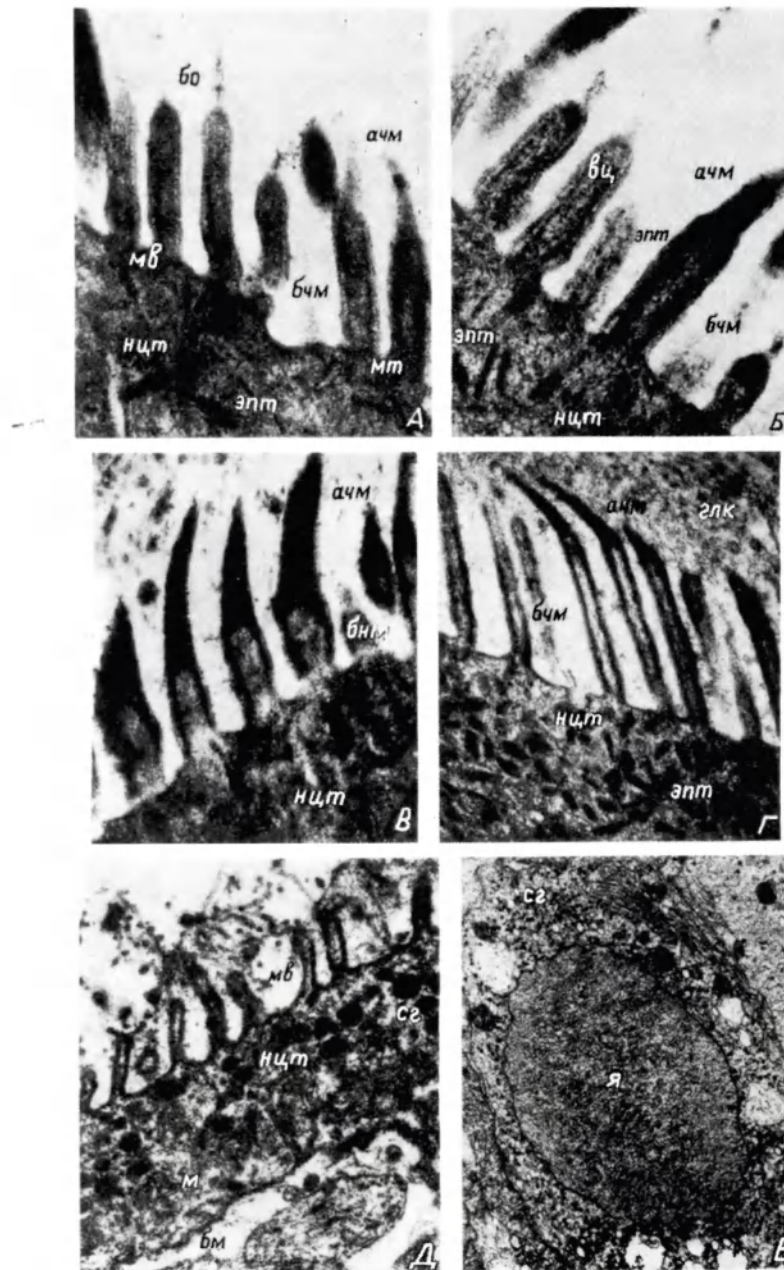


Рис. 3. Тонкое строение покровов процеркоидов некоторых кариофиллидных цестод.
 А, Б — формирование микротрихий из микроворсинок у *K. sinensis*, $\times 50\,000$; В — конусовидные микротрихии *A. sieboldi*, $\times 50\,000$; Г — трубчатые микротрихии *A. sieboldi*, $\times 33\,000$; Д — дистальная цитоплазма тегумента церкомера инвазионных *A. sieboldi*, $\times 26\,000$; Е — тегументальные цитоны церкомера инвазионных *A. sieboldi*, $\times 3300$. ачм — апикальная часть микротрихий, бчм — базальная часть микротрихий, сг — секреторные гранулы; остальные обозначения, как на рис. 1 и 2.

Fig. 3. The ultrastructure of the tegument of some proceroids of *Caryophyllidae*.